柿果实采后氧化还原电位与乙烯合成和相关酶活性的关系

刘思敏[1]，黄思婕，陆笛，刘柳，孙宁静*

（广西大学 农学院，南宁 530004）

摘要：以广西特色柿品种（ *Diospyros kaki Thunb.*）‘恭城月柿’为材料，在采后贮藏过程中对其氧化还原电位（ORP）、乙烯生物合成量、硬度、色差、抗氧化酶及细胞壁降解酶活性的变化进行测定分析，初步探讨柿果实氧化还原电位与乙烯生物合成和相关酶活性的关系。结果表明：贮藏期果实的硬度整体呈下降趋势，乙烯利处理果实的硬度从采后 3 d 即急速下降，至贮藏末期始终显著低于对照。贮藏前 14 d 果实转色比较缓慢，采后 15 d，乙烯利处理果实的总色差△E 值快速上升至 29.6，转色完全，显著高于对照的 11.9。在贮藏前期处理和对照果实的 ORP 均稳定在 7.5 $mV\cdot g^{-1}$，采后 15 d，乙烯利处理果实的 ORP 快速上升至 11.9 $mV\cdot g^{-1}$，是对照组的 1.4 倍。乙烯利处理果实的乙烯生物合成量在贮藏前期呈较低水平，采后 15 d，乙烯生成量急剧增加至 0.372 $\mu L\cdot kg^{-1}\cdot h^{-1}$ 的高峰，对照乙烯生成量则始终维持在 0.033 $\mu L\cdot kg^{-1}\cdot h^{-1}$ 的较低水平。由此可见，乙烯生成量的增加与 ORP 的上升关系密切。此外，抗氧化酶中的过氧化物酶（POD）和细胞壁降解酶中的β-D-半乳糖苷酶（β-D-Gal）活性与 ORP 也呈极显著正相关，表明二者受果实 ORP 变化的影响。因此，经乙烯利处理柿果实的 ORP 贮藏末期显著上升，促进乙烯生物合成量的急剧增加，诱导抗氧化酶 POD 和细胞壁降解酶 β-D-Gal 活性增强，导致果实急速后熟软化。柿果实 ORP 可能作为开关调控 1-氨基环丙烷-1-羧酸（ACC）生成乙烯这一生物化学反应，即打破 ORP 的稳定状态引发乙烯合成的启动。研究通过探讨氧化还原电位与柿果实成熟软化的关系，为果实采后贮藏保鲜技术提供理论依据。

关键词：柿，氧化还原电位，乙烯，酶活性，软化，保鲜

文献标志码：A

Oxidation reduction potential, ethylene biosynthesis, and enzyme activities of post-harvest persimmon

LIU Si-Min, HUANG Si-Jie, LU Di, LIU Liu, SUN Ning-Jing*

(*College of Agriculture, Guangxi University,* Nanning 530004, China)

Abstract: Ethylene is a common plant hormone which can accelerate the ripening of fruits. Post-harvest ripening involves a variety of complex metabolic processes such as ethylene biosynthesis, reactive oxygen species biosynthesis and cell wall degradation hydrolyses. ‘Gong Cheng’ Persimmon is a distinctive variety of Guangxi Province, China and was used as the research material to determine the changes of indexes e.g., oxidation reduction potential, ethylene biosynthesis, firmness, total chromatism, and related enzyme activities during the storing experiment. The results demonstrate that firmness decreased continuously during the whole storing period, the firmness of fruits were treated with ethephon were declining rapidly during the first three days of storage, and was significantly lower than the control at all times. During the first fourteen days of storage, the total color

[1]收稿日期：2017-10-30

基金项目：国家自然科学基金项目（31501809）；广西自然科学基金项目（2014GXNSFCA118007，2015GXNSFBA139112） [Supported by National Natural Science Foundation of China (31501809); Guangxi Natural Science Foundation (2014GXNSFCA118007, 2015GXNSFBA139112)]。

作者简介：刘思敏（1994-），女，湖南常德人，硕士研究生，专业方向为园艺产品采后生物学及贮运，(E-mail) 784488059@qq.com。

*通信作者：孙宁静，博士，副教授，研究方向为果实采后生物学，(E-mail) sunningjing@gxu.edu.cn。

chromatism was rising slowly. Fourteen days after harvest, the color of fruits, which were treated with ethephon, had changed completely and delta E value rapidly increased to the maximum of 29.6 which is evidently higher than the control of 11.9. The oxidation reduction potential (ORP) changed within a smaller range and maintained at 7.5 mV·g^{-1} in the prophase of storage. Fourteen days after harvest, the ORP of fruits which were treated with ethephon increased rapidly to 11.9 mV·g^{-1}, 1.4 times as much as the control. Additionally, ethylene biosynthesis did not change significantly during the first fourteen days. However, from the fifteenth days after harvest, the ethylene biosynthesis rate of fruits were treated with ethephon increased sharply to 0.372 μL·kg^{-1}·h^{-1} and reached the maximum, but the control kept at a stable level of 0.033 μL·kg^{-1}·h^{-1}. Thus, the increase of ethylene biosynthesis is closely related to the rise of ORP. Furthermore, the activity of peroxidase (POD) belonging to the antioxidative enzymes and β-D-galactosidase (β-D-Gal) belonging to the cell wall degrading enzymes were also significantly and positively correlated to ORP, indicating that POD and β-D-Gal activities are affected by the ORP. Therefore, the ORP of persimmon fruits treated with ethephon increased observably at the end of storage, promoting a sharp biosynthesize of ethylene, increasing activities of POD and β-D-Gal, and finally resulting in the rapid softening and ripening of persimmon. It is proved that persimmon fruit oxidation reduction potential (ORP) may act as a switch to control the biochemical reaction of ethylene biosynthesis, and breaking the ORP steady state can initiate ethylene synthesis. This study is aimed to investigate the relationship between oxidation reduction potential and the softening of persimmon, and provide a theoretical basis for postharvest storage technology.

Keywords: persimmon, oxidation reduction potential, ethylene, enzyme activity, soften, retain freshness

‘恭城月柿’是我国广西壮族自治区特色涩柿品种，存在着涩与甜、脆与软的矛盾（王华瑞等，2004），采后脱涩处理导致的物理和化学伤害促进了果实的成熟软化，从而影响其品质和货架期（Yin et al，2012）。因此，贮藏期间果实的快速成熟软化严重制约了广西柿产业的发展。柿果实属于呼吸跃变型果实，对乙烯极为敏感，贮藏环境中极微量的乙烯便可诱导其产生内源乙烯从而导致其后熟软化（Itamura et al，1986，1991）。部分跃变型水果成熟期在树上不易成熟，一旦与树体脱离则迅速进入呼吸跃变期（Burg & Burg，1962）。Sun et al（2009，2010，2013）研究发现柿果实着生树体期间乙烯合成的启动由韧皮部的“光合产物流因子”和木质部的“水因子”共同控制，切断任何一个途径都能诱导果实内源乙烯的大量生成。采后研究中，水分胁迫通过诱导启动果蒂的乙烯合成，再进一步促发果实的乙烯自动催化反应在柿果实中已经得到证实（Nakano et al，2001，2002，2003）。但是，研究发现外源抗氧化剂（维生素C）可以明显抑制采后柿（范灵姣等，2017）和猕猴桃（Yin et al，2013）乙烯合成前体物（ACC）积累和关键酶（ACS、ACO）活性增加，进而减少内源乙烯生成。外投抗氧化剂会影响机体的氧化还原电位（ORP）及相关抗氧化指标（尹守铮，2010；王俊等，2016）。ORP表征机体中氧化还原状态的相对强弱（向交等，2014），其在机体中过高或过低，都会导致应激及相关代谢的启动进而加快衰老（廖鹏等，2006）。目前国内外对ORP的研究较多的关注在水体、土壤以及发酵工业的环境监测等领域中，关于果实采后ORP变化与其成熟软化的关系还未见报道。

本实验通过研究柿果实采后贮藏过程中氧化还原电位、乙烯生物合成量、抗氧化酶以及细胞壁降解酶之间的关系，探讨氧化还原电位在其后熟软化中的作用，为果实采后保鲜技术提供一定的理论依据。

1.材料与方法

1.1 材料与处理

供试品种为‘恭城月柿’。果实于 2016 年 10 月 29 日采摘于广西桂林市恭城县，采摘后当日运回广西大学园艺系实验室。挑选大小一致（180 ~ 200 g）、色泽均匀、成熟度一致、无病虫害且无机械损伤的果实，于冷库中贮藏用于试验，温度为 25 ℃（变幅控制在 1 ℃以内），相对湿度为 60 % ~ 70 %。试验贮藏时间为 2016 年 10 月 29 日至 2016 年 11 月 13 日。

试验共设两个处理，每个处理用果量为 350 个。乙烯利处理即 1000 mg·L^{-1} 的乙烯利溶液浸泡柿果实 5 min 后于阴凉处通风晾干果实表面的水分，然后于密封袋（80 cm × 80 cm）中密封处理 24 h 后置于冷库中进行贮藏；去离子水处理为对照。每 3 天对果实相关指标进行测定，并切取赤道部果肉，液氮速冻后于-80 ℃保存备用。

1.2 测定指标与方法

1.2.1 硬度和总色差的测定

硬度的测定参照 Wang et al（2010）的方法，每个处理随机选取 12 个果实，在果实赤道部相反方向的两面削去小块果皮后，用质构仪 TA.XT.plus（英国，Stable Micro Systems 公司）进行穿刺，穿刺探头为 C002ST （直径 5 mm 圆柱形探头），深度为 10 mm，速度为 1.5 mm·s^{-1}。每个处理每次测定均进行 3 次生物学重复，每个重复 4 个果。

总色差的测定参照（范灵姣等，2017）的方法，每个处理随机选取 9 个果，用 GR-10 色差计（日本，KONICA MINOLTA 公司）对果实赤道部随机进行一次测定，每个处理每次测定均进行 3 次生物学重复，每个重复 3 个果。

1.2.2 氧化还原电位的测定

ORP 测定参照 Chen et al（2005）的方法并做部分改良。每个处理随机选取 12 个果，每个果取赤道部果肉 10 g 制作切片（Ø = 12 mm，δ = 5 mm），置于 150 mL 的磷酸缓冲液（0.1 mol·L^{-1}， pH 7.0）中 30 min，滤纸过滤后，用经醌氢醌饱和溶液标定后的金属铂电极 600s-ORP（美国，JENCO 公司）进行测定，时间为 2 min。每个处理每次测定均进行 3 次生物学重复，每个重复 4 个果。

1.2.3 乙烯生物合成量的测定

每个处理随机选取 5 个果实置于 4 L 密封容器中，25 ℃环境下密封 6 h，用注射器采集 5 管（每管 5 mL）顶空气体，采用气相色谱仪 GC-17A（日本，Shimadzu 公司）进行测定，GC 条件为：色谱柱：固定相为 Porapak Q 的不锈钢填充柱（2 m × 3 mm（od））；检测器：氢火焰离子化检测器（FID）；气体：载气：N_2（流速 50 mL·min^{-1}），燃气：H_2（30 mL·min^{-1}），助燃气：空气（300 mL·min^{-1}）；检测温度：检测器：200 ℃，进样口：110 ℃，色谱柱：90 ℃；微量注射器手动进样（美国，Hamilton 公司），进样量为 1000 μL。

1.2.4 酶液制备及酶活性测定

过氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）、过氧化物酶（POD）酶液的制备参照 Aebi（1984）和 Chance & Maehly（1995）的方法略加改进，取果肉 3.0 g，液氮研磨，加入 5.0 mL 提取缓冲液（0.1 mol·L^{-1} 磷酸缓冲液，pH 7.8；5 mmol·L^{-1} DTT；5 % PVP）摇匀，4 ℃离心 30 min，取上清液用于酶活性的测定。酶活性的测定采用比色法，SOD 参照 Li et al（2016）的方法进行，CAT 和 POD 参照 Khademi et al（2014）的方法进行。

多聚半乳糖醛酸酶（PG）、纤维素酶（Cx）、β-D-半乳糖苷酶（β-D-Gal）酶液的制备参照 Andrews & Li（1995）和 Zhou et al（1999）的方法略加改进。取果肉 3.0 g，液氮研磨，加 6.0 mL 0.2 % 硫酸钠溶液摇匀，4 ℃离心 15 min，弃上清液加入 6 mL 100 mmol·L^{-1} 的醋酸钠缓冲液（内含 100 mmol·L^{-1} NaAc，1 %（V/V）巯基乙醇，1.5 % PVP（K-30）），pH 5.2，置冰槽中摇匀，4 ℃离心 30min，上清液用于酶活性测定。PG 活性测定按照 Jiang et al（2010）的方法，Cx 活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸法（Opigo & Ying，2010），β-D-Gal 活性测定按照 Itamura et al（2013）的方法。以上生理指标的测定，每个处理每次测定均

进行 3 次生物学重复，每个重复 4 个果。

1.3 数据处理

采用 Excel 2010（美国，Microsoft 公司）和 SPSS 17.0 软件（中国，IBM SPSS 公司）进行数据的作图、分析和统计，采用最小显著差异法（LSD）进行差异显著性分析，$P<0.05$ 表示差异显著。

2.结果与分析

2.1 柿果实贮藏期间硬度和总色差的变化

采后果实硬度和颜色变化直观反映其成熟的变化状态。图 1：A 显示，贮藏期果实的硬度整体呈下降趋势，乙烯利处理组果实从采后 3 d 即急速下降，由起始的 13.2 N 降低至 9.96 N，至贮藏末期始终显著低于对照，对照果实软化进程缓慢。图 1：B 显示，果实总色差值△E 贮藏期间呈上升趋势，乙烯利处理组果实的△E 值贮藏前 14 d 变化较小，果实转色比较缓慢，采后 15 d，△E 值快速升高至 29.6，转色完全，显著高于对照（11.9）。由此可见，乙烯利处理加快了果实软化和转色，促进了果实的后熟。

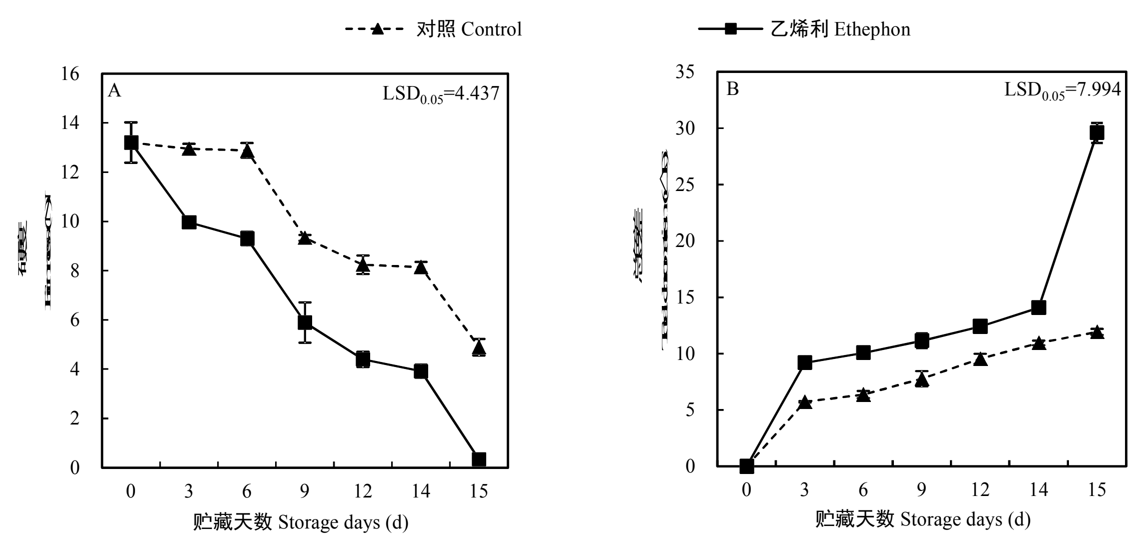


图 1 柿果实贮藏过程中硬度（A）和总色差（B）的变化横坐标的大小写有问题，请修改

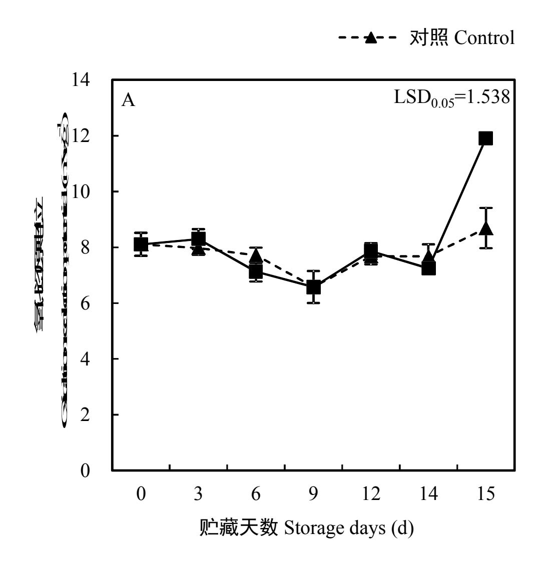
Fig.1 Changes of firmness (A) and total chromatism (B) during storage of persimmon fruit

注：误差条表示标准误；$n = 3$。

Note: Error bars represent standard errors; $n = 3$.

2.2 柿果实贮藏期间氧化还原电位和乙烯生物合成量的变化

ORP 表征果实的氧化还原状态，图 2：A 显示，贮藏期果实的 ORP 在前 14 d 稳定在 7.6 mV·g^{-1}，采后 15 d，乙烯利处理组果实 ORP 快速升高至 11.9 mV·g^{-1}，显著高于对照的 8.7 mV·g^{-1}。乙烯是五大植物激素之一，能够加快果实的成熟。由图 2：B 可以看出，贮藏期乙烯利处理组果实的乙烯生物成量始终高于对照组，采后 15 d，乙烯生成量急剧增加至 0.372 μL·kg^{-1}·h^{-1} 的高峰，对照乙烯生成量则维持在 0.033 μL·kg^{-1}·h^{-1}。贮藏期果实的 ORP 与乙烯生物合成量呈极显著正相关（表 1），这表明果实乙烯生成量增加与 ORP 上升关系密切。



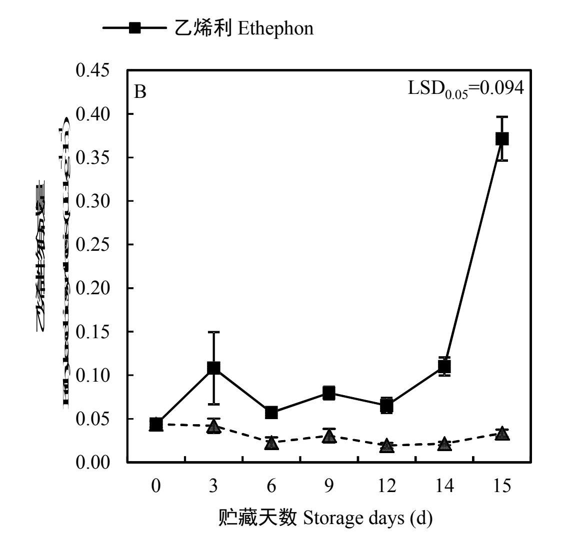


图 2 柿果实贮藏过程中氧化还原电位（A）和乙烯生物合成量（B）的变化

Fig.2 Changes of oxidation reduction potential (A) and ethylene biosynthesis (B) during storage of persimmon fruit

注：误差条表示标准误；A 中 *n* = 3，B 中 *n* = 5。

Note: Error bars represent standard errors; *n* = 3 in A and *n* = 5 in B.

2.3 柿果实贮藏期间抗氧化酶的变化

SOD、CAT、POD 是活性氧代谢系统中的重要酶系统，可以清除果实内活性氧从而延缓其成熟衰老。由图 3 可以看出，乙烯利处理果实的抗氧化酶活性整体高于对照。贮藏期果实 SOD 活性整体呈下降趋势，采后 15 d，乙烯利处理组果实的 SOD 活性由起始的 5.25 $U·min^{-1}·g^{-1}$ 降低至 4.6 $U·min^{-1}·g^{-1}$，高于对照的 3.56 $U·min^{-1}·g^{-1}$。图 3：B 和 3：C 显示，乙烯利处理组果实的 CAT 活性在贮藏前 9 d 变化较小，采后 9~15 d，CAT 活性有一个急剧上升-下降的变化趋势，其中在第 14 d 达到最大值 347.47 $U·min^{-1}·g^{-1}$，对照组 CAT 活性稳定在 7.9 $U·min^{-1}·g^{-1}$。更有意思的是贮藏前 14 d，果实的 POD 活性在 0.035 $U·min^{-1}·g^{-1}$ 以下且无明显变化，采后 15 d，乙烯利处理组果实的 POD 活性急速上升至 0.504 $U·min^{-1}·g^{-1}$，显著高于对照 0.005 $U·min^{-1}·g^{-1}$。贮藏期间，柿果实 SOD 和 CAT 活性与 ORP、乙烯生成量、硬度和总色差的相关性不显著，但 POD 活性与 ORP、乙烯生成量和色差呈极显著正相关，与果实硬度呈显著负相关（表 1），说明整个贮藏期，POD 活性的升高与 ORP 升高、乙烯生物合成量增加以及果实的成熟软化关系密切。

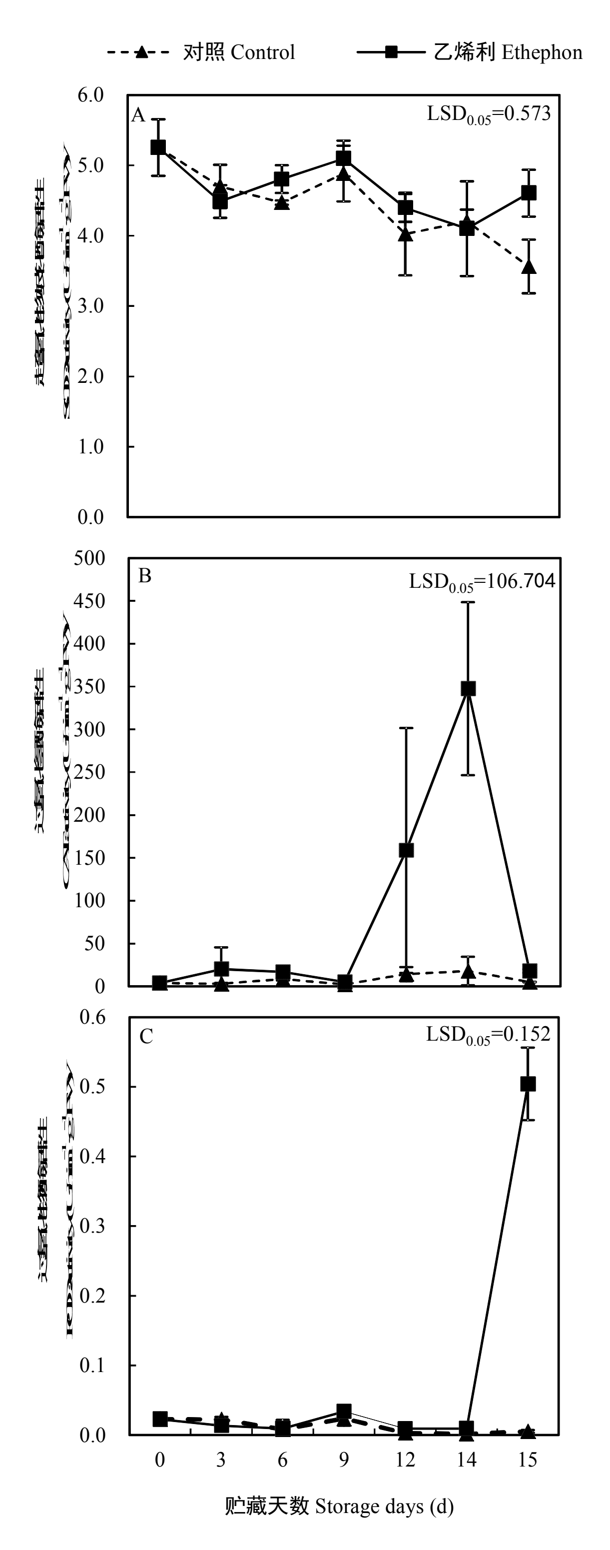


图 3 柿果实贮藏过程中 SOD（A）、CAT（B）和 POD（C）活性的变化

Fig.3 Changes of SOD (A), CAT (B) and POD (C) activities during storage of persimmon fruit

注：误差条表示标准误，*n* = 3。下同。

Note: Error bars represent standard errors, *n* = 3. The same below.

2.4 柿果实贮藏期间细胞壁降解酶的变化

PG、Cx 和 β-D-Gal 是促进细胞壁组分水解，调控果实成熟软化的关键酶。图 4：A、4：B 显示，贮藏期 PG 活性整体呈先上升后下降的变化趋势，乙烯利处理组果实的 PG 活性始终稍高于对照组，乙烯利处理组果实的 Cx 活性与对照果实无明显差异。由图 4：C 可以看出，贮藏期果实的 β-D-Gal 活性整体呈上升趋势，乙烯利处理组果实的 β-D-Gal 活性在贮藏前 14 d 变化较小，采后 15 d，β-D-Gal 活性急速上升至最大值 60.64 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$，至贮藏末期始终显著高于对照。贮藏期果实的 PG 和 β-D-Gal 活性与硬度呈显著负相关，β-D-Gal 活性与 ORP、乙烯生物合成量和总色差呈极显著正相关（表 1），由此可见，β-D-Gal 活性的升高与 ORP 升高、乙烯生物合成量增加以及果实的成熟软化关系密切。

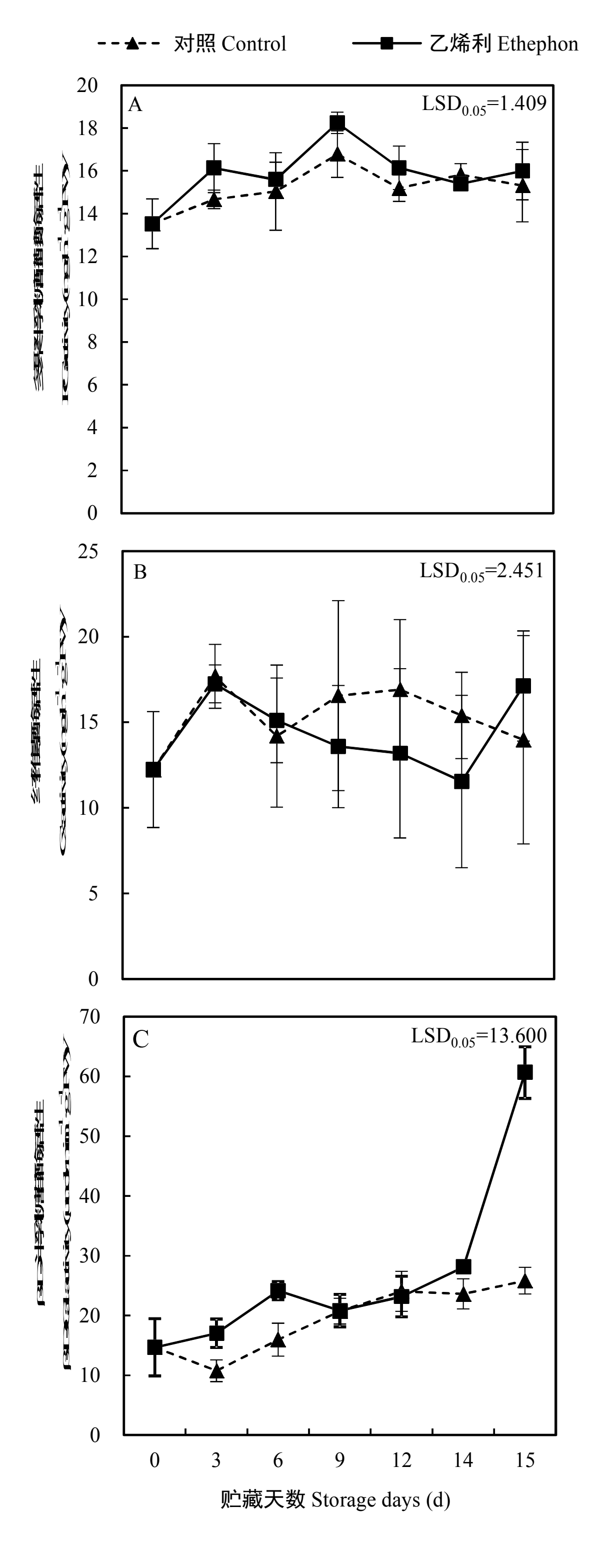


图 4 柿果实贮藏过程中 PG（A）、Cx（B）和 β-D-Gal（C）活性的变化

Fig.4 Changes of PG (A), Cx (B) and β-D-Gal (C) activities during storage of persimmon fruit

表 1 柿果实氧化还原电位、乙烯生物合成量、硬度、总色差与相关酶活性的相关系数

Table1 Correlation coefficient between oxidation reduction potential, ethylene biosynthesis, firmness, total chromatism and related enzyme activities in persimmon fruit

	氧化还原电位 Oxidation reduction potential	乙烯生物合成量 Ethylene biosynthesis	硬度 Firmness	总色差 Total chromatism
氧化还原电位 Oxidation reduction potential	—	0.811**	-0.421	0.630*
乙烯生物合成量 Ethylene biosynthesis	0.811**	—	-0.642*	0.826**
硬度 Firmness	-0.421	-0.642*	—	-0.894**
总色差 Total chromatism	0.630*	0.826**	-0.894**	—
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase (SOD)	-0.143	0.049	0.470	-0.392
过氧化氢酶 Catalase (CAT)	-0.146	0.119	-0.436	0.238
过氧化物酶 Peroxidase (POD)	0.856**	0.948**	-0.551*	0.780**
多聚半乳糖醛酸酶 Polygalacturonase (PG)	-0.194	0.208	-0.549*	0.497
纤维素酶 Carboxymethyl cellulase (Cx)	0.280	0.228	-0.007	0.313
β-D-半乳糖醛酸酶 β-D-galactosidase (β-D-Gal)	0.746**	0.880**	-0.818**	0.931**

注：*表示 $P<0.05$ 显著水平，**表示 $P<0.01$ 极显著水平。

Note: * and ** indicate significant linear correlation of 0.05 and 0.01 levels, respectively.

3 结论与讨论

植物激素乙烯被证实是促进调控果实成熟软化和衰老的重要因子，人工合成乙烯利遇水释放乙烯气体，广泛用于跃变型果实的人工催熟，如香蕉（郭斐，2016）、菠萝蜜（王俊宁等，2014）、番茄（徐爱东，2011）、樱桃（Khorshidi & Davarynejad，2010）、梨（Choi et al，2013）、无花果（李春丽，2016）等水果。本研究发现，乙烯利处理显著促进果实硬度下降和总色差升高，催熟作用明显。同时，乙烯利处理果实的乙烯生成量急剧增加。贮藏期，乙烯生成量与果实硬度呈显著负相关，与总色差呈极显著正相关。验证了乙烯是调控柿果实成熟软化的关键因素。

氧化还原电位（ORP）代表机体氧化还原状态的相对强弱（向交等，2014），表征氧化还原反应的自由能和反应的方向（Gibbs，1873）。氧化还原反应由两个半反应组成，即氧化半反应和还原半反应，每个半反应都有其对应的电位（Boyer，2002）。在生命体中，呼吸作用及各种代谢途径都离不开氧化还原反应，它不仅为生物提供能量，还决定生命体的衰老和死亡（董亮等，2013）。而果实乙烯合成过程中， ACC 与 O_2 由 ACC 氧化酶（ACO）生成乙烯（C_2H_4）本质上是一个氧化还原反应，电子传递和氧化还原状态的不断变化影响其反应的进行方向。本研究中，柿果实 ORP 在贮藏前 14 d 相对稳定，采后 15 d，乙烯利处理组 ORP 快速上升显著高于对照，同时伴随乙烯的大量生成，果实 ORP 与乙烯生成量呈极显著正相关。这表明柿果实贮藏期，乙烯合成与 ORP 稳定状态之间关系密切，

ORP 可能作为开关调控 ACC 生成乙烯这一生物化学反应，即打破 ORP 的稳定状态引发乙烯合成的启动，进而加快果实后熟。

细胞内存在着一套完整的氧化系统和还原系统。正常情况下，二者处于有机平衡，细胞功能正常。一旦二者失衡，就会导致应激反应，进而加快衰老（Gerontol，1956）。植物在正常的代谢活动中会产生超氧阴离子（$O_2^{\cdot-}$）、过氧化氢（H_2O_2）、羟自由基（·OH）等活性氧（ROS）（Li et al，2016），ROS 是打破细胞内氧化系统与还原系统之间动态平衡的主要因素。而 SOD、CAT、POD 是生物体内活性氧防御系统的重要酶系统，可以清除组织中 ROS，减少 ROS 积累对细胞造成的伤害，从而延缓衰老（王成涛等，2011）。本研究发现，抗氧化酶中 SOD 活性在整个贮藏期维持较高水平无显著变化，而 CAT 和 POD 活性在贮藏前期活性维持在较低水平，且 POD 活性与 ORP 呈极显著正相关。这表明，SOD 对果实内 ROS 的清除作用贯穿整个贮藏期，对维持细胞内氧化还原动态平衡起重要作用。而 CAT 和 POD 对 ROS 的清除作用，可能在 H_2O_2 积累到一定水平后才启动，且 CAT 作用时间早于 POD。SOD、CAT、POD 的协同作用通过维持 ORP 相对稳定，达到延缓果实快速衰老软化的目的。同时，POD 活性上升与 ORP 稳定状态密切相关，果实内 ORP 稳定状态打破可能是诱导 POD 活性快速上升的主要原因。

细胞壁降解是导致果实软化的直接原因。一系列细胞壁降解酶（PG、Cx、β-D-Gal 等）的相互作用，使得细胞中胶层结构发生改变，细胞壁物质降解，细胞壁整体结构最终被破坏（Huber，1983）。PG 和 Cx 促进果实软化的作用在蓝果忍冬（赵丽娟，2016）、西瓜（刘景安等，2013）、苹果（刘超超等，2011）等果实中已经得到证实。齐秀东等（2015）发现，不耐贮藏的‘京白梨’果实中，β-D-Gal 相比 PG 和 Cx 与其成熟软化存在着更为密切的关系。这一结果在草莓（薛炳烨等，2006）、桃（阚娟等，2012）和番茄（Gross & Wallner，1979）等果实中也有过类似报道。本研究中，β-D-Gal 活性与硬度呈极显著负相关，与乙烯生成量、总色差呈极显著正相关，其与乙烯生成量、硬度和总色差的相关度远大于 PG 和 Cx，这与齐秀东等（2015）在梨果实中研究的结果相一致。同时，β-D-Gal 活性与 ORP 呈极显著正相关，表明贮藏期，β-D-Gal 活性受 ORP 变化的影响，ORP 上升诱导其活性的增加，从而促进细胞壁降解，加快果实软化进程。

综上所述，氧化还原电位在柿果实后熟软化过程中起关键作用。外源乙烯通过打破果实内氧化还原电位的稳定状态，引发自身乙烯合成的启动，促进内源乙烯大量生成，诱导抗氧化酶 POD 和细胞壁降解酶 β-D-Gal 活性增强，从而加快贮藏期果实的后熟衰老进程。

参考文献：

AEBI H, 1984. Catalase in vitro [J]. Methods Enzymol 105: 121-126.

ANDREWS PK, LI S, 1995. Cell wall hydrolytic enzyme activity during development of nonclimacteric sweet cherry (*Prunus avium L.*) fruit [J]. J Hort Sci, 70(4): 561-567.

BOYER RF, 2002. Concepts in biochemistry [M]. New York: John Wiley and Sons Publishers.

BURG SP, BURG EA, 1962. Role of ethylene in fruit ripening [J]. Plant Physiol, 37: 179-189.

CHANCE B, MEAHLY A, 1995. Assay of catalases and peroxidases [J]. Methods Enzyme, 2: 764-775.

CHEN YF, ETHERIDGE N, SCHALLER GE, 2005. Ethylene signal transduction [J]. Ann Bot, 95(6): 901-915.

CHOI JH, LEE UY, AHN YJ, et al, 2013. Effects of ethephon and aminoethoxyvinylglycine on fruit quality and incidence of physiological disorders during simulated exportation environment in ‘Wonhwang’ pears [J]. CNU Journal of Agricultural Science, 42(2): 79-86.

DONG L, HE YZ, WANG YL, et al, 2013. Research progress in the application of superoxide dismutase (SOD) [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 15(5): 53-58. [董亮，何永志，王远亮，等，2013. 超氧

化物歧化酶(SOD)的应用研究进展 [J]. 中国农业科技导报，15(5)：53-58.]

FAN LJ, SUN NJ, WANG K, et al, 2017. Effects of exogenous ascorbic acid treatment on persimmon fruit freshness after de-astringency [J]. Guihaia, 37(5): 599-605. [范灵姣，孙宁静，王坤，等，2017. 外源抗坏血酸处理对人工脱涩柿果的保鲜作用 [J]. 广西植物，37(5)：599-605.]

GERONTOL J, 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry [J]. J Gerontol, 11(3): 298-300.

GIBBS JW, 1873. A method of geometrical representation of the thermodynamic properties of substances by means of surfaces [J]. Trans Conn Acad, 2: 382-404.

GROSS KC, WALLNER SJ, 1979. Degradation of cell wall polysaccharides during tomato fruit ripening [J]. Plant Physiol, 63(1): 117-120.

GUO F, 2016. Effect of ABA and ethephon treatments to the ripening of bananas [D]. Shanxi: Shanxi Agricultural University. [郭斐，2016. 外源脱落酸和乙稀利处理对香蕉成熟的影响[D]. 山西：山西农业大学.]

HUBER DJ, 1983. The role of cell wall hydrolases in fruit softening [J]. Hortic Rev, 5: 169- 219.

ITAMURA H, 1986. Relationships between fruit softening, respiration, and ethylene production after deastringent treatment by alcohol in Japanese persimmon (*Diospyros kaki Thunb. Var 'Hiratanenashi'*) fruits harvested at various stages [J]. J Jpn Soc Hort Sci, 55(1): 89-98.

ITAMURA H, KITAMURA T, HARADA H, et al, 1991. Relationship between fruit softening, ethylene production and respiration in Japanese persimmon 'Hiratanenashi' [J]. J Jpn Soc Hort Sci, 60(3): 695-701.

ITAMURA H, NAKATSUKA A, ADACHI T, et al, 2013. Relationships among ethylene, cell wall degrading enzyme activities and on-tree softening in persimmon (*Diospyros kaki Thunb.*) fruit [J]. Acta Hortic, 996: 54.

JIANG NN, RAO JP, FU RS, et al, 2010. Effects of propylene and 1-methylcyclopropene on PG activities and expression of DkPG1 gene during persimmon softening process [J]. Acta Horticulturae Sinica, 37(9): 1507-1512.

KAN J, LIU J, JIN CH, 2012. Study on the relationship between peach fruit softening, cell wall degradation related glycosidase and ethlylene biosynthesis [J]. Scientia Agricultura Sinica, 45(14): 2931-2938. [阚娟，刘俊，金昌海，2012. 桃果实成熟软化与细胞壁降解相关糖苷酶及乙烯生物合成的关系 [J]. 中国农业科学，45(14)：2931-2938.]

KHADEMI O, BESADA C, MOSTOFI Y, et al, 2014. Changes in pectin methylesterase, polygalacturonase, catalase and peroxidase activities associated with alleviation of chilling injury in persimmon by hot water and 1-MCP treatments [J]. Sci Hort-amsterdam, 179(24): 191-197.

KHORSHIDI S, DAVARYNEJAD G, 2010. Influence of preharvest ethephon spray on fruit quality and chemical attributes of 'Cigany' sour cherry cultivar [J]. J Biol Environ Sci, 4(12): 133-141.

LI CL, SHEN YY, 2016. Relationship between ABA and ethylene content and fruit ripening in fig fruit development [J]. J Chin Agric Univ, 21(11): 51-56. [李春丽，沈元月，2016. 无花果果实发育过程中 ABA 和乙烯含量与果实成熟的关系 [J]. 中国农业大学学报，21(11)：51-56.]

LI Y, LU HY, CHENG Q et al, 2016. Changes of reactive oxygen species and scavenging enzymes of persimmon fruit treated with CO_2 deastringency and the effect of hydroxyl radicals on breakdown of cell wall polysaccharides in vitro [J]. Sci Hort-amsterdam, 199: 81-87.

LIAO P, MA GD, ZHANG Y, 2006. Research progress of antioxidant supplement and steady reduction of cell oxidation [J]. J Sports Med, 25(5): 574-577. [廖鹏，马国栋，张勇，2006. 抗氧化剂补充与细胞氧化还原稳态研究进展 [J]. 中国运动医学杂志，25(5)：574-577.]

LIU CC, WEI JL, XU YT, et al, 2011. Preliminary study on firmness and related physiological indices of three early-ripening apple cultivar during late development of the fruit [J]. Acta Hortic Sin, 38(1): 133-138. [刘超超，魏景利，徐玉亭，等，2011. 苹果 3 个早熟品种果实发育后期硬度及其相关生理指标的初步研究 [J]. 园

艺学报，38(1)：133-138.]

LIU JA， HE HJ， GUO SG， et al， 2013. Physiological and biochemical mechanism for watermelon fruit ripening and softening [J]. J Fruit Sci, 30(5): 813-818. [刘景安，何洪巨，郭绍贵，等，2013. 西瓜果实成熟软化的生理生化机制 [J]. 果树学报，30(5)：813-818.]

NAKANO R, HARIMA S, KUBO Y, et al, 2001. Delay of fruit softening in forcing-cultured ‘Tonewase’ Japanese persimmon by packaging in perforated polyethylene bags [J]. J Jpn Soc Hort Sci, 70(3): 385-392.

NAKANO R, OGURA E, KUBO Y, et al, 2003. Ethylene biosynthesis in detached young persimmon fruit is initiated in calyx and modulated by water loss from the fruit [J]. Plant Physiol. 131(1): 276-286.

NAKANO R, INOUE S, KUBO Y, et al, 2002. Water stress-induced ethylene in the calyx triggers autocatalytic ethylene production and fruit softening in ‘Tonewase’ persimmon grown in a heated plastic-house [J]. Postharvest Biol Technol. 25(3): 293-300.

OPIYOL AM, YING TJ, 2010. Regulation of cellulase and pectinase activities in cherry tomoto (*Lycopersicon esculentum MILL var. cerasiforme*) fruit by use of 1-methylcyclopropene [J]. J Agric Biol Sci, 5(5): 55-64.

QI XD, WEI JM, GAO HS, et al, 2015. Pectin polysaccharide degradation in relation to the texture softening in pear fruit [J]. Sci Agric Sin, 48(15): 3027-3037. [齐秀东，魏建梅，高海生，等，2015. 梨果实发育软化与果胶多糖降解特性的关系 [J]. 中国农业科学，48(15)：3027-3037.]

SUN NJ, ADACHI F, KADOWAKI M, et al, 2010. Effects of photosynthate transport and water flow to young fruit on fruit drop via ethylene synthesis in persimmon (*Diospyros kaki Thunb.*) [J]. J Jpn Soc Hortic Sci, 79(4): 340-347.

SUN NJ, NAKATSUKA A, YAMAUCHI N, et al, 2009. Effects of ‘tree ethylene inhibitory factors’ on fruit drop and ethylene production in persimmon fruit [J]. Food Preserv Sci, 35: 241-248.

SUN NJ, TANG Z, NAKATAUKA A, et al, 2013. Studies on the ‘tree factor’ and its role in regulating induction of ethylene in persimmon (*Diospyros kaki Thunb.*) fruit [J]. Acta Hortic, 996: 399-404.

WANG CT, WANG CT, ZHAO L, et al, 2011. Age-related changes in antioxidant enzyme activities in golden needle mushroom during modified atmosphere storage under varying oxygen content conditions [J]. Food Sci, 32(8): 300-304. [王成涛，王昌涛，赵磊，等，2011. 不同氧分压条件下金针菇贮藏保鲜相关酶活性的研究 [J]. 食品科学，32(8)：300-304.]

WANG J, YIN SZ, ZHANG NY, et al, 2016. Effect of vitamine C on endogenouse redox states of broilers [J]. J Hubei Agric Sci, 55(4): 966-970. [王峻，尹守铮，张妮娅，等，2016. 维生素 C 对肉鸡体内氧化还原状态的影响 [J]. 湖北农业科学，55(4)：966-970.]

WANG JN, CHEN WY, FENG F, et al, 2014. Effect of ethephon treatment on physiological index of jackfruit after harvest [J]. J Guangdong Agric Sci, 39(3): 94-98. [王俊宁，陈文耀，丰锋，等，2014. 乙烯利处理对菠萝蜜果实催熟的影响 [J]. 广东农业科学，39(3)：94-98.]

WANG P, ZHANG B, LI X, et al, 2010. Ethylene signal transduction elements involved in chilling injury in non-climacteric loquat fruit [J]. J Exp Bot, 61: 179–190.

WANG HR，LENG P，ZHAO GF，et al，2004. Advances in storage of persimmon fruit [J]. J Fruit Sci，21(2): 164-166. [王华瑞，冷平，赵桂芳，等，2004. 柿果贮藏保鲜研究进展 [J]. 果树学报，21(2)：164-166.]

XIANG J, XU LP, LI HP, et al, 2014. Study on and application of oxidation-reduction potential [J]. Earth and Environment, 42(3): 430-436. [向交，徐丽萍，李和平，等，2014. 氧化还原电位的研究及应用 [J]. 地球与环境，42(3)：430-436.]

XU AD, 2011. Review on affection of tomato fruit nutritional quality from ethylene [J]. Northern Hortic, (10): 181-184. [徐爱东，2011. 乙烯利催熟对番茄果实营养品质影响的研究进展 [J]. 北方园艺，(10)：181-184.]

XUE BY, MAO ZQ, SHU HR, 2006. Changes in glycosidases and cellulase activities, and cell wall composition in

strawberry fruits during development and ripening [J]. Journal of plant physiology and molecular biology , 32(3): 363-368. [薛炳烨，毛志泉，束怀瑞，2006. 草莓果实发育成熟过程中糖苷酶和纤维素酶活性及细胞壁组成变化 [J]. 植物生理与分子生物学学报，32(3)：363-368.]

YIN SZ, 2010. Effect of exogenous anti-oxidant on the redox state and performance in broilers [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [尹守铮，2010. 外源抗氧化剂对肉鸡机体氧化还原状态和生产性能的影响 [D]. 武汉：华中农业大学.]

YIN XR, ZHANG Y, ZHANG B, et al, 2013. Effects of acetylsalicylic acid on kiwifruit ethylene biosynthesis and signaling components [J]. Postharvest Biol Technol, 83: 27-33.

YIN XR， SHI YN， MIN T， et al， 2012. Expression of ethylene response genes during persimmon fruit astringency removal [J]. Planta, 235: 895-906.

ZHAO LJ, 2016. The preliminary research on ripening and softening mechanism of blue honeysuckle (*Lonicera cearuiea L.*) fruit [D]. Harbin: Northeast Agricultural University: 1-59. [赵丽娟，2016. 蓝果忍冬(*Lonicera cearuiea L.*)果实成熟软化机理研究 [D]. 哈尔滨：东北农业大学：1-59.]

ZHOU HW, SONEGOI L, BEN-ARIE R, 1999. Analysis of cell wall components in juice of flavortop nectarines during normal ripening and woolliness [J]. J Amer Soc Hort Sci, 124(4): 424 -429.